



EESTI MAAÜLIKOOL  
Metsandus- ja maaehitusinstituut

**Helene Eenlo**

**PRUUNVÖÖTAUDI TEKITAJA *LECANOSTICTA ACICOLA*  
VILJAKEHADE JA EOSTE ROHKUS EESTIS**

BROWN SPOT NEEDLE BLIGHT CAUSED BY  
*LECANOSTICTA ACICOLA* FRUITING BODIES AND  
CONIDIAL ABUNDANCE IN ESTONIA

Bakalaureusetöö  
Metsanduse õppekava

Juhendajad: teadur, Kalev Adamson *PhD*  
doktorant, Marili Laas *MSc*

Tartu 2021

Eesti Maaülikool		Bakalaureusetöö lühikokkuvõte	
Kreutzwaldi 1, Tartu 51014			
Autor: Helene Eenlo		Õppekava: metsandus	
Pealkiri: Pruunvöötaudi tekitaja <i>Lecanosticta acicola</i> viljakehade ja eoste rohkus Eestis			
Lehekülgi:28	Jooniseid: 9	Tabeleid: 3	Lisasid:0
Osakond:	Metsakasvatuse ja metsaökoloogia õppetool		
Uurimisvaldkond:	Metsapatoloogia		
Juhendaja(d):	Kalev Adamson <i>PhD</i> , Marili Laas <i>MSc</i>		
Kaitsmiskoht ja aasta:	Tartu, 2021		
<p>Uued ja invasiivsed patogeenid Eestis vajavad üha rohkem tähelepanu, et mõista invasiivsete seenhaiguste kulgu ning seeläbi rakendada efektiivselt profülaktilisi tõrje meetmeid. Sellele tuginedes seati käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks uurida 2008. aastal Eestis avastatud pruunvöötaudi tekitaja <i>Lecanosticta acicola</i> eoste ja viljakehade leviku dünaamikat ja nende seoseid ilmastikuga.</p> <p>Käesoleva bakalaureusetöö andmed koguti Eesti Maaülikooli dendraariumis kasvava pruunvöötaudi nakatunud mägimänni (<i>Pinus mugo</i>) lähedusse paigutatud aktiivse eospüüdjaga (Bukard) perioodil 02.01.2018-03.01.2020 ning viljakehadega okkaproovid koguti vahemikus 18.10.2017-03.01.2020. Eoste arvukuse hindamiseks õhus kasutati liigispetsiifilist qPCR meetodit ning viljakehade prepareerimist. Eoste leviku modelleerimiseks kasutati ilmaandmeid Eesti Maaülikooli Tehnikamaja ning Tartu Ülikooli Füüsikainstituudi ilmajaamadest.</p> <p>Ilmandmete mõju hindamisel selgus, et viljakehades olevate eoste arvukusele osutus statistiliselt oluliseks kastepunkt (<math>P&lt;0,05</math>). Õhutemperatuuri kasvades ja langedes oli näha selgeid paralleele eoste arvukusel viljakehades. Eoste hulk viljakehades oli kõige kõrgem juulis, augustis ja septembris. Kõige madalam eoste arv viljakehades oli märtsis, aprillis ja mais. Tulemustes täheldati, et eoseid leidis nii viljakehades kui õhus aastaringselt ka miinuskraadidel ning suurim eoste arvukus õhus oli juunikuus. Saadud tulemustest võib järeldada, et keskmisest soojemad suvekuud soodustavad viljakehades eoste tootlust, mistõttu võib ilmastiku muutudes eoste sporulatsiooni kestusaeg kuude lõikes varieeruda.</p>			
Märksõnad: eospüüdja, mägimänd, <i>Pinus mugo</i> , qPCR,			

Estonian University of Life Sciences		Abstract of Bachelor's Thesis	
Kreutzwaldi 1, Tartu 51014			
Author: Helene Eenlo		Speciality: forestry	
Title: Brown Spot Needle Blight Caused by <i>Lecanosticta acicola</i> Fruiting Bodies and Conidial Abundance in Estonia			
Pages: 28	Figures: 9	Tables: 3	Appendixes: 0
Department:	Chair of Silviculture and Forest Ecology		
Field of research:	Forest pathology		
Supervisors:	<i>PhD</i> Kalev Adamson, <i>MSc</i> Marili Laas		
Place and date:	Tartu 2021		
<p>New invasive pathogens in Estonia need more attention and furthermore research in order to understand the dynamics of the distribution of invasive fungal diseases and thus to implement effective preventive control measures. Based on the above, the aim of this bachelor's thesis was to study brown spot needle blight caused by <i>Lecanosticta acicola</i> fruiting bodies and conidial abundance in Estonia climate conditions.</p> <p>Data were collected from January 2, 2018 to January 3, 2020. In the arboretum of the Estonian University of Life Sciences with an active spore trap (Bukard) placed near the diseased mountain pine (<i>Pinus mugo</i>). Needle samples were collected from the same tree from October 18, 2017 to January 3, 2020. A species-specific qPCR method was used to determine the number of spores in the air and a weather dataset was compiled for statistical analysis.</p> <p>Results show that Dew point (<math>P&lt;0.05</math>) was statistically significant for the conidial production. As the air temperature increased and decreased, clear parallels were seen with the number of spores in the fruiting bodies. Conidial production was highest in July, August and September. In the second half of autumn, the number of spores in the fruiting bodies started to decrease until the spring months of March, April and May when spore numbers were the lowest. The results show that fruiting bodies sporulate all year round and even in weather conditions below 0°C. Conidia observed on spore trap showed a peak in abundance occurring in June. Warmer summers promote spore production therefor active sporulation period varies according to weather changes throughout the year.</p>			
Keywords: mountain pine, <i>Pinus mugo</i> , qPCR, spore trap			

# SISUKORD

1. SISSEJUHATUS .....	5
2. METOODIKA .....	8
2.1. Algandmed .....	8
2.2. Labortööd .....	8
2.2.1. Viljakehade ja nendes olevate eoste loendamine .....	8
2.2.2. Proovide ettevalmistud DNA eraldamiseks .....	9
2.2.3. DNA eraldamine .....	9
2.2.4. QPCR analüüs .....	10
2.3. Statistiline analüüs .....	11
3. TULEMUSED .....	12
3.1. QPCR analüüsi tulemused .....	12
3.2. Korrelatsioonanalüüs .....	13
3.3. GLM mudelid .....	13
3.3.1. Viljakehade ja nendes olevate eoste arvukuse seos ilmastikuandmetega .....	13
3.4. Viljakehade ja nendes olevate eoste arvukus kuude ja aastate lõikes .....	14
3.5. Õhutemperatuuri mõju viljakehade ja eoste arvukusele .....	15
3.6. Õhuniiskuse mõju viljakehade ja eoste arvukusele .....	16
3.7. Kastepunkti mõju viljakehade ja eoste arvukusele .....	17
3.8. Sademete mõju viljakehade ja eoste arvukusele .....	19
4. ARUTELU .....	21
5. KOKKUVÕTE .....	24
KASUTATUD KIRJANDUS .....	26

# 1. SISSEJUHATUS

Võõrliikidest taimede import ja kliima muutustest tingitud soojemad talved ning niiskemad suvekuud on tekitanud soodsad tingimused uute seenhaiguste levikuks Eesti aladel (Drenkhan, Hanso 2009; Hanso, Drenkhan 2013). Invasiivsed patogeened tekitavad iga aasta Ameerika metsades kahju hinnanguliselt 2,1 miljardi dollari ulatuses (Pimentel 2000). Euroopas levivate võõrliikide sh invasiivsete patogeenide poolt tekitatavat kahju hinnatakse ligi 10 miljardi euro ulatuses, mis võib aga suuresti olla alahinnatud, sest enamus võõrliikide tegelik mõju keskkonnale ja majandusele on tänaseni teadmata (Hulme *et al.* 2009).

Euroopa ja Vahemeremaade Taimekaitseorganisatsiooni (OEPP/EPPO) poolt karatiinsete seenhaiguste hulka kategoriseeritud pruunvöötaudi tekitaja *Lecanosticta acicola* avastati Eestis 2008. aastal Tallinna botaanikaaiast kollasel männil (*Pinus ponderosa*), mis oli ka ühtlasi esmane leid patogeeni levikust Põhja-Euroopas (Drenkhan, Hanso 2009). Pruunvöötaudi potentsiaalseteks peremeestaimedeks on männi (*Pinus* ssp.) liigid, kuid patogeen on leitud ka seedri (*Cedrus* ssp.) perekonna esindajal, liibanoni seedril (*Cedrus libani*) (OEPP/EPPO 2015; Oskay *et al.* 2020). Algselt Kesk-Ameerikast pärit ning laialdaselt Põhja-Ameerikas, Euroopas ja Aasias leviv *L. acicola* on tekitanud suuri kahjustusi jõulupuuistandustes, puukoolides ja taimlates, kus puude lähestikku kasvamine võimaldab patogeenil intensiivselt levida (van der Nest *et al.* 2019a,b; Skilling, Nicholls 1974). Pruunvöötaud on Euroopasse toodud arvatavasti kahe erineva introduktsiooni tulemusena, kus Edela-Euroopas leviv patogeen on USA lõunaosa päritoluga ning Põhja-, Kesk- ja Kirde-Euroopas on seenhaigus Põhja-Ameerika kirdeosa päritolu (Janoušek *et al.* 2016). Esmakordselt Euroopas 1942. aastal Hispaanias avastatud pruunvöötaud on tänaseks raporteeritud 17nes Euroopa riigis (van der Nest *et al.* 2019a), kus põhilisteks peremeestaimedeks on alpi seedermand (*P. cembra*), konksmand (*P. mugo* subsp. *uncinata*), mägimänd (*P. mugo*), harilik mänd (*P. sylvestris*) jt (OEPP/EPPO 2015). Peale esmaleidu Eestis on Põhja-Euroopas *L. acicola* esinemine dokumenteeritud 2009. aastal Leedus mägimännil, 2012. aastal Lätis käabus-seedermännil (*P. pumila*) ning 2019. aastal Lõuna-Rootsis mägimännil (Mullett *et al.* 2018; Cleary *et al.* 2019; Markovskaja *et al.* 2011).

Sarnanedes sümptomite ja kahjustuste osas varasemalt Eestis 2006. aastal avastatud punavöötaudile (*Dothistroma septosporum*) (Hanso, Drenkhan 2007), värvuvad pruunvöötaudi poolt nakatunud puul okkatipud pruuniks ning esinevad kollakad kuni pruunid vöödid (Drenkhan, Adamson 2013). Pruunidele vöötidele tekivad väikesed suguta arengujärgus tumedad viljakehad, kus arenevad oliivrohelised 10-55 x 2-4,5 µm mõõdus eosed (Drenkhan, Adamson 2013). Küpsed viljakehad vabastavad eosed õhutemperatuuril -5,5-28° ning sademete abil saab toimuda eoste levik läheduses kasvavatele puudele (Skilling, Nicholls 1974; van der Nest *et al.* 2019a). Sobilikul niiskustasemel ja temperatuuril toimub okastel eoste idanemine ning seejärel sisenevad hüüfid valguse abil avanenud okaste õhulõhedesse (Kais 1975).

Nakatunud männi okkad varisevad enneaegselt, jättes võrsele enamasti viimase aasta okkad, mis võib varieeruda sõltuvalt peremeestaime liigist (Skilling, Nicholls 1974). Teise ja kolmanda aasta okkad on aga põhiliseks puu juurdekasvu võimaldavaks toiteainete tootjaks, mistõttu krooniliseks okkahaiguseks kujunemisel võib patogeen tekitada suurt kahju mändidele (Drenkhan 2011).

Peale esmast *L. acicola* leidu kollasel männil dokumenteeriti aastatel 2011-2014 pruunvöötaud neljal erineval eksootmänni taksonil (*P. mugo*, *P. x rhaetica*, *P. mugo* var. *pumilio*, *P. uncinata*) Tallinnas, Vasulas ja Käreveres Tartumaal, Kärđlas Hiiumaal ning Toris Pärnumaal (Adamson *et al.* 2015). 2016. aasta sügisel avastati Tartumaal pruunvöötaud tugevalt haigestunud mägiländide läheduses kasvavatel noortel harilikel mändidel, mis osutus ühtlasi ka esmaseks leiuks Põhja-Euroopas, kus patogeen nakatas kodumaist liiki (Adamson *et al.* 2018). Populatsiooni geneetilised uuringud on näidanud, et patogeenil on Eestisse olnud arvatavasti mitu introduktiooni (Adamson *et al.* 2015; Laas *et al.* 2019). 2017. aastal läbi viidud *L. acicola* populatsioonide analüüs näitab, et edasine levik Eestis on tõenäoliselt toimunud inimese kaasabil, mida kinnitab üle Eesti leviva seenhaiguse sarnane geneetiline struktuur ning suguta arengujärgus klonaalne paljunemine, millest tingituna eosed ei ole võimelised iseseisvalt eelpool mainitud nakkuskohtade vahelisi vahemaid läbima (Laas *et al.* 2019).

Eestis on varasemalt pruunvöötaudi uuritud läbi DNA-põhiste seirete ja geneetiliste uuringute (Adamson *et al.* 2015; Adamson *et al.* 2018; Laas *et al.* 2019; Kattai 2012; Drenkhan *et al.* 2013). Küll aga pole varasemalt kaasatud *L. acicola* uurimustesse ilmastikumõju ja eospüüdjat, et hinnata eoste rohkust õhus.

Lõputöö „Pruunvöötaudi tekitaja *Lecanosticta acicola* viljakehade ja eoste rohkus Eestis“ eesmärgiks on uurida seenhaiguse leviku dünaamikat, püstitades alaeesmärgid järgnevalt:

1. Uurida viljakehade ja nendes olevate eoste rohkuse seost ilmastikuandmetega;
2. Uurida, kas viljakehade ja nendes olevate eoste rohkus on erinev kuude ja aastate lõikes;
3. Uurida viljakehade ja nendes olevate eoste arvukuse seost õhus leviva eoste hulga.

Tuginedes eelnevale on töö hüpoteesid järgnevad:

1. Eoste rohkus viljakehades sõltub õhutemperatuurist;
2. Viljakehade ja nendes olevate eoste rohkus on talvekuudel kõige madalam;
3. Viljakehades olevate eoste ja õhus levivate eoste rohkuse vahel ei ole seost.

Saadud uurimistulemused annavad selgema ülevaate pruunvöötaudi tekitaja *Lecanosticta acicola* levimisest Eesti kliimas ning vajalikku infot tulevaste uuringute tarbeks, kui ka profülaktiliste tõrjete rakendamiseks.

Käesoleva töö autor soovib tänu avaldada enda juhendajatele Kalev Adamsonile ja Marili Laasile heade nõuannete, abivalmiduse ja aktiivse juhendamise eest.

## **2. METOODIKA**

### **2.1. Algandmed**

Perioodil 18.10.2017-03.01.2020 koguti Eesti Maaülikooli dendraariumis *L. acicola* nakkusega mägimännilt iganädalaselt okkaproovid. Okkaproove säilitati -30°C juures kuni analüüsideni.

Perioodil 02.01.2018-03.01.2020 koguti sama nakkusega mägimännilt eoseid eospüüdja (Burkard 7day recording volumetric spore trap) abil. Elektriõul töötav eospüüdja imeb minutis 10 liitrit õhku ning õhus levivad eosed kleepuvad vaseliiniga kaetud lindile. Lint trumlil liigub kiirusel 2mm/tunnis, tehes 7 päevaga ühe täisringi. Kogutud proovid asetati markeeritud kuupäevade ja kellaaegadega plasttorusse ning säilitati sügavkülmas temperatuuri -30°C juures järgnevateks labortöödeks. Eelnevalt kirjeldatud väli-ja labortöid töö autor ei teostanud.

### **2.2. Labortööd**

#### **2.2.1. Viljakehade ja nendes olevate eoste loendamine**

Igast proovist valiti üheksa juhuslikku sümptomaatilist okast, millelt loendati visuaalsel vaatlusel *L. acicola* viljakehade arv. Seejärel arvutati viljakehade arv ühe okka kohta.

Okkal esinevate viljakehade olemasolul valmistati igast okkaproovist kolm preparaati. Iga preparaat sisaldas kolme viljakeha. Igast preparaadist tehti valgusmikroskoobiga (Nickon Eclipse 50i, Jaapan) 600x suurendusega 3 juhusliku asukohaga pilti ning loendati eoste arv.



Seejärel arvutati eoste keskmine arvukus igal pildil. Viljakehade ja nendes olevate eoste loendamist käesoleva töö autor ei teostanud.

### **2.2.2. Proovide ettevalmistud DNA eraldamiseks**

Labortöödeks jagati eospüüdja algandmed kahe bakalaureuse lõputöö autori vahel, kus käesoleva töö autor töötas andmetega, mis koguti eospüüdjal vahemikus 03.01.2019-03.01.2020.

Proovide ettevalmistamisel asetati eelnevalt plasttorus hoiustatud eospüüdja lint tunnitäpsusega mõõdupuule. Seejärel koguti steriilse skalpelliga 12 tunnine eoste kogum lindilt koos vaseliiniga ning asetati 2.0 ml tuubi. Iga tööetapi vahel steriliseeriti skalpell piiritusega ning kuumutati piirituslambil. Uue proovi ettevalmistamisel võeti uus, eelnevalt steriliseeritud ja jahtunud skalpell ning korraldati protsessi. Eospüüdja lintidelt koguti kokku 660 proovi, mis võttis aega ca 50 tundi. Ettevalmistatud proovid säilitati sügavkülmas -24°C juures kuni DNA eraldamiseni.

### **2.2.3. DNA eraldamine**

DNA eraldamisel lisati tuubi kolm kuni viis 2 mm suurust steriilset metallikuuli ning purustati homogenisaatoriga (Retsch GmbH, Saksamaa), et saaks toimuda rakkude lagunemine ning DNA eraldumine eostest eesmärgiga tuvastada *L. acicola* olemasolu proovides. Edasine DNA eraldamine viidi läbi Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification kit-i (Leedu) kasutades ning selle tootjapoolset protokoll järgides. Kokku eraldati 660 proovi, milleks kulus aega hinnanguliselt 82 tundi. Eraldatud proovid säilitati sügavkülmas -80°C juures järgnevateks qPCR analüüsideks.

#### 2.2.4. QPCR analüüs

Eoste arvukuse määramisel qPCR meetodil kasutati *L. acicola* liigispetsiifilisi praimereid LAtef-F1 (5' – CCTCCTTCATCTTCCCCTTC –3'), LAtef-R1 (5'-TGTGGGAGATAGCGTTGTCA –3') ja LAtef-P1 (5'FAM – CY5-CAAGCACTCTTGGAAACACACCGC- BHQ3 – 3') (Ioos *et al.* 2010) ning PCR segu aluseks 5x HOT FIREPol Probe qPCR Mix Pus (no ROX) (Solis BioDyne, Eesti).

Proovis olevate eoste hulga hindamiseks loodi standard. Selleks kasvatati Petri tassis *L. acicola* puhaskultuur, mida steriilsesse vette lisades valmistati eoste suspensioon. Suspensioonis olevate eoste kontsentratsiooni hinnati hematsütomeetriga. DNA eraldati eelnevalt kirjeldatud metoodikat kasutades 0,2 ml suspensioonist, mis sisaldas hinnanguliselt 476 000 eost (2 380 000 eost/ml). Eraldatud DNA-st valmistati lahjenduste seeria (0x, 10x, 100x, 1000x, 10 000x) ehk standard. Võrreldes qPCR masinal mõõdetud lahjenduste ct-väärtusi matemaatilise ideaaliga hinnati antud kõver sobivaks standardiks ( $R^2=0,999$ ). Edasistes analüüsides oli igas proovide partiis kaks proovi standardist ehk määratud eoste kontsentratsiooniga proovi, mille kaudu qPCR masin hindas proovides olevat eoste arvu, võrreldes proovide ct-väärtust standardi omaga. Standard oli laboris varasemalt välja töötatud.

QPCR analüüsideks proovide ettevalmistamine teostati steriilses keskkonnas laminaarkapis (Scanlaf MARS). Ühe qPCR proovi valmistamiseks kasutati 4 µl 5x HOT FIREPol Probe qPCR Mix Pus (no ROX), 0.4 µl LAtef-F1, 0.4 µl LAtef-R1, 0.2 µl LAtef-P1, 13 µl DNA vaba vett ning 2 µl DNAd eraldatud proovist. Iga qPCR partii koosnes 33st proovist, kahest standardist ning negatiivsest kontrollist.

Peale proovide valmistamist asetati need qPCR masinasse ning järgiti protokoll järgenvolt: eelkuumutus +95°C juures 12 minutit, 50 tsükliline DNA denaturatsioon temperatuuril +95°C 15 sekundit ning praimerite seondumine toimus +57°C juures 55 sekundit. QPCR analüüsidele kulus hinnanguliselt 40 tundi.

## 2.3. Statistiline analüüs

Viljakehade ning nendes olevate eoste ja ilmastikuolude seose hindamiseks koostati Maaülikooli Tehnikainstituudi energeetika osakonna poolt loodud ilmajaama andmetest andmetabel, võttes arvesse õhutemperatuuri, õhuniiskuse ja kastepunkti. Sademete andmed saadi Tartu Ülikooli füüsika instituudi mõõteandmetest. Analüüsiks arvutati okkaproovide kogumiskuupäevale eelnenud seitsme päeva keskmised õhutemperatuuri, õhuniiskuse, kastepunkti ning sademete hulgad, kuna eeldati, et eelneva nädala ilmastik mõjutab viljakehade ja nendes olevate eoste arvukust. QPCR analüüsi tulemustest arvutati eoste arv  $1\text{ m}^3$  õhu kohta ning koostati joonised, mille põhjal võrreldi nädala keskmist eoste arvukust seitsme päeva keskmiste ilmaandmetega.

Visuaalselt loendatud viljakehade ja nendes olevate eoste ja ilmastikuolude seose hindamiseks koostati MS Exceli abil joonised ning statistiliseks analüüsiks kasutati STATISTICA programmi, mille abil hinnati keskmise õhutemperatuuri, õhuniiskuse, kastepunkti ja sademete hulga mõju lineaarsel (GLM) mudelil. Kõikidel joonistel arvestati uuritava perioodiga 18.10.2017-03.01.2020.

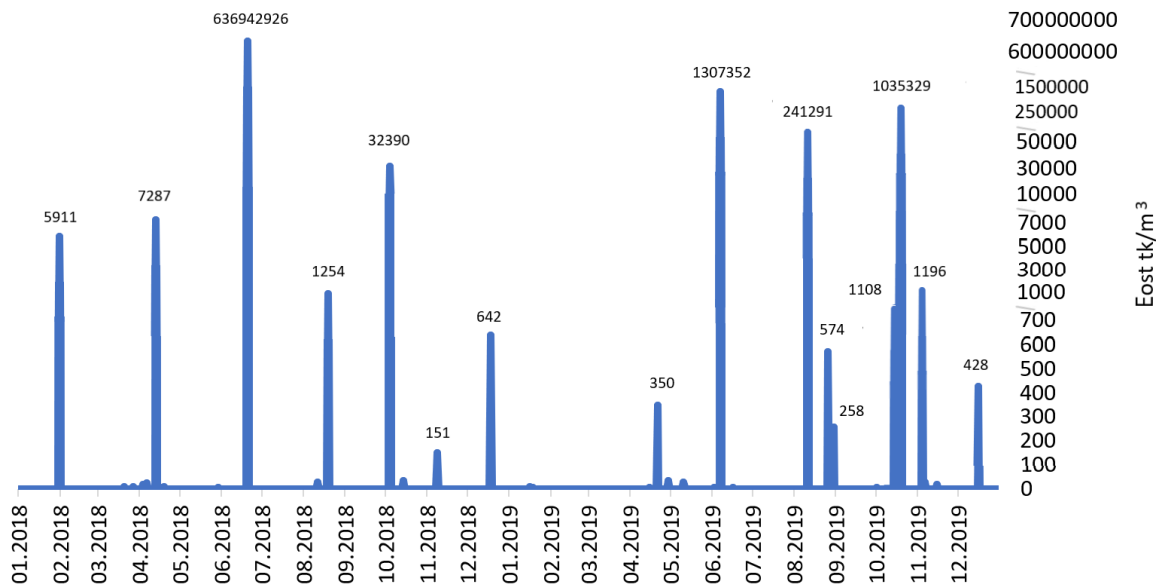
Viljakehade ja nendes olevate eoste rohkuse erinevust kuude ja aastate lõikes võrreldi Tukey (HSD) ja Post-hoc testil, arvestades perioodi 18.10.2017-03.01.2020.

Viljakehade ja nendes olevate eoste arvu ning eoste hulga kohta õhus tehti seose hindamiseks korrelatsioonanalüüs. Seose hindamisel arvestati eospüüdjalt saadud kaheaastase kogumisperioodi tulemusi, kuhu arvestati nii käesoleva töö kui ka Mihkel Kiili bakalaureusetöö algandmed. Korrelatsioonanalüüsis kasutati viljakehadega kogutud okkaproovide andmeid, mis koguti perioodil 05.01.2018-02.01.2020 ning eospüüdjalt saadud tulemused perioodil 02.01.2018-03.01.2020.

### 3.TULEMUSED

#### 3.1. QPCR analüüsi tulemused

Liigispetsiifilist qPCR meetodit kasutades hinnati eospüüdjal kogutud andmete põhjal eoste arvukus õhus. QPCR analüüsis kogu uuritava perioodi (02.01.2018-03.01.2020) kohta 1373 proovi, millest 37 sisaldas *L. acicola* eoseid. QPCR analüüsi tulemused näitavad, et eoseid leidis õhus aastaringselt, kus eoste arv õhus 1 m<sup>3</sup> kohta varieerus 0–636942926 ulatuses (Joonis 1). Suurimad eoste arvud õhus saadi 20. juuni 2018 (636942926 eost) ja 7. juuni 2019 (1307353 eost). Perioodi 09.01.2018-18.01.2018, 27.06-23.07.2019, 27.11-03.12.2019 kohta andmed puuduvad, tingitud masina rikkest või aku tühjenemisest.



**Joonis 1.** Eoste hulk 1 m<sup>3</sup> kohta õhus kuude lõikes.

### 3.2. Korrelatsioonanalüüs

Viljakehade ja nendes olevate eoste arvu ning eoste hulga kohta õhus teostatud korrelatsioonanalüüs osutus statistiliselt mitteoluliseks ( $P > 0,05$ ). Tulemused näitavad, et viljakehade ja nendes olevate eoste arvukuse ja eoste hulgal seos kolme uuritava vahel puudub.

### 3.3. GLM mudelid

#### 3.3.1. Viljakehade ja nendes olevate eoste arvukuse seos ilmastikuandmetega

Viljakehade ja nendes olevate eoste arvukusele hinnati ilmaandmete mõju lineaarsel (GLM) mudelil. Seoste hindamisel selgus, et viljakehade arvukusele keskmine õhutemperatuur, kastepunkt, õhuniiskus ja sademete summa statistilist olulist mõju ei omanud.

Ilmaandmete mõju hindamisel eoste arvukusele osutus statistiliselt oluliseks kogumiskuupäevale eelnenud seitsme päeva keskmine kastepunkt ( $p = 5,064 \cdot 10^{-12}$  (Tabel 1)). Keskmine õhutemperatuur, õhuniiskus ja sademete hulk osutus eoste arvukuse puhul statistiliselt mitteoluliseks ning jäeti mudelist välja.

**Tabel 1.** Eoste arvukust iseloomustav mudel

Muutuja	Muutuja p väärtus	Mudeli seose tugevus R	Mudeli seose tugevus R <sup>2</sup>	Mudeli adjusted R <sup>2</sup>	Mudeli p väärtus
Keskmine kastepunkt	$5,064 \cdot 10^{-12}$	0,596	0,355	0,350	$5,064 \cdot 10^{-12}$
Vabaliige	$2,578 \cdot 10^{-8}$				
<u>Mudelist välja jäänud muutujad</u>					
Keskmine õhutemperatuur	0,143				
Keskmine õhuniiskus	0,215				
Sademete hulk	0,194				

*Keskmine eoste arv viljakehades =  $n + m \cdot$  Keskmine kastepunkt,*

Kus  $m = 0,26$  ja  $n = 1,5954$

### 3.4. Viljakehade ja nendes olevate eoste arvukus kuude ja aastate lõikes

Viljakehade ja nendes olevate eoste arvukust võrreldes Post-hoc ja Tukey (HSD) testil selgus, et viljakehade arvukus ei erine kuude ega aastate lõikes ( $p>0,05$ ) (Tabel 2 ja 3). Küll aga erineb viljakehadest saadud eoste arvukus teistest kuudest juulis, augustis ja septembris ( $p<0,05$ ) (Tabel 2). Kõige madalam eoste rohkus viljakehades oli mais ja kõige kõrgem augustis. Kõige väiksem viljakehade arv ühe sümptomaatilise okka kohta oli jaanuaris ning kõige kõrgem mais.

**Tabel 2.** Viljakehade ja eoste rohkus kuude lõikes ( 18.10.2017-03.01.2020)

Kuu	Keskmine viljakehade arv okkal	Keskmine eoste arv viljakehas
Jaanuar (a)	2,7	1,5 <sup>g,h,i</sup>
Veebruar (b)	3,2	1 <sup>g,h,i</sup>
Märts (c)	4,7	0,8 <sup>g,h,i</sup>
Aprill (d)	3,5	0,6 <sup>g,h,i</sup>
Mai (e)	5,3	0,5 <sup>g,h,i</sup>
Juuni (f)	3,2	3 <sup>h</sup>
Juuli (g)	3,7	5,9 <sup>a,b,c,d,e,j,k,l</sup>
August (h)	4,1	8,3 <sup>a,b,c,d,e,f,j,k,l</sup>
September (i)	3,4	5,9 <sup>a,b,c,d,e,j,k,l</sup>
Oktoober (j)	3,5	2,5 <sup>g,h,i</sup>
November (k)	4,1	1,4 <sup>g,h,i</sup>
Detsember (l)	3,3	1,5 <sup>g,h,i</sup>

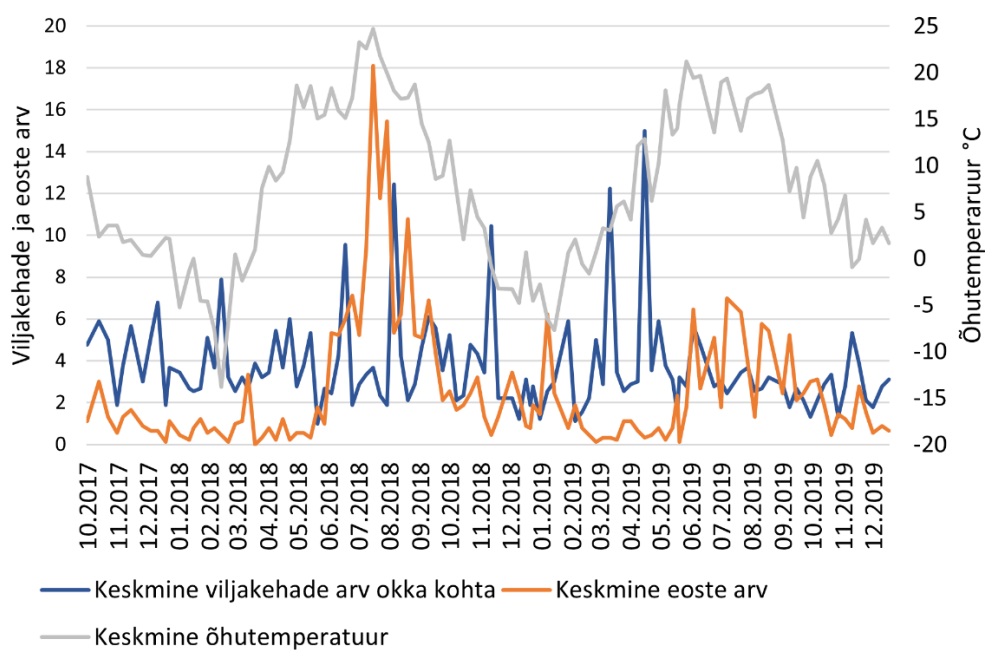
a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l näitab statistilist erinevust Tukey (HSD) testil, kus  $p<0,05$

**Tabel 3.** Viljakehade ja eoste rohkus aastate lõikes

Aasta	Keskmine viljakehade arv okkal	Keskmine eoste arv viljakehas
2018	3,9	3,3
2019	3,4	2,1

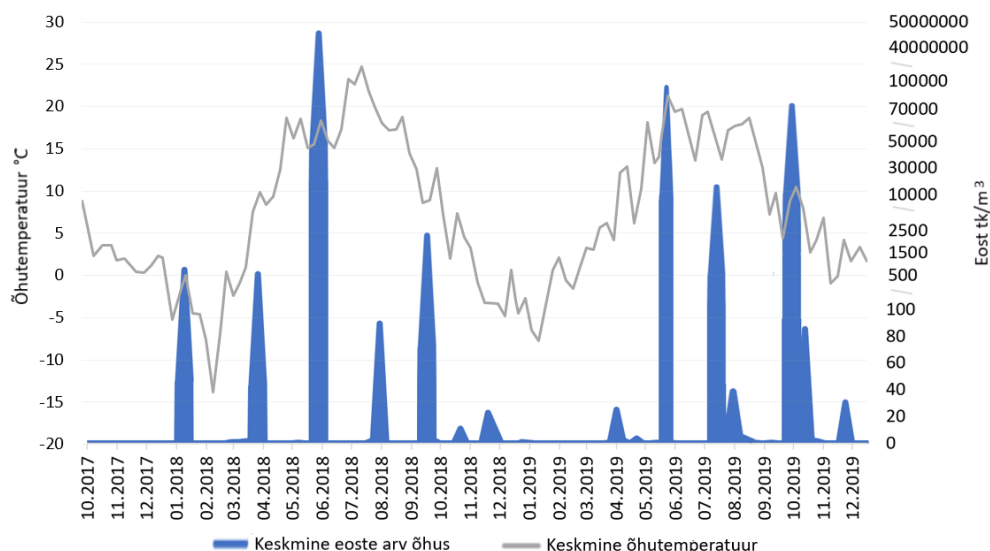
### 3.5. Õhutemperatuuri mõju viljakehade ja eoste arvukusele

Viljakehades olevate eoste arv varieerub vastavalt õhutemperatuuri muutusele (Joonis 2), samalaadset viilakehade arv on muutuses kõikidest vaadeldavatest teguritest sõltumata (Joonis 2, 4, 6 ja 8). Kogu uuritava perioodi kõige soojemal nädalal (02.08.2018), millele eelneva seitsme päeva keskmine õhutemperatuur oli 24,7°C, leidis viljakehades suurim arv eoseid (18,1 eost). 2019. aastal saadi kõrgeim eoste arv (7 eost) viljakehadest 24. juuli, millele eelneva nädala keskmine õhutemperatuur oli 19,3°C. Oktoobris õhutemperatuuri langemise järgselt on näha viljakehades olevate eoste arvukuse kahanemist, kuid miinuskraadide saabumisel eoste valmimine ei lõppe, vaid püsib madalal tasemel läbi talve, kuni maikuuni ning hakkab siis keskmise õhutemperatuuri tõusul jälle kasvama.



**Joonis 2.** Viljakehade ja nendes olevate eoste rohkus ja keskmine õhutemperatuur kalendrikuude kaupa (18.10.2017-03.01.2020).

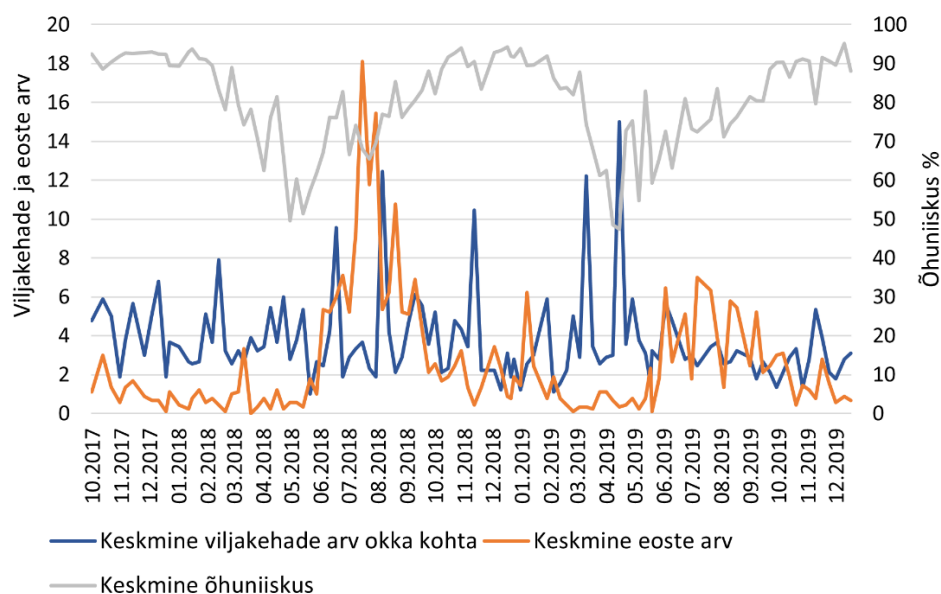
Kõrgemad eoste arvukuse näitajad püsisid nädala keskmisel õhutemperatuuril vahemikus 7-20°C (Joonis 3). Kõige kõrgem eoste hulk nädala kohta saadi 14. juuni. 2018 ja 06. juuni. 2019, kus nädala keskmine õhutemperatuur oli 15,5-16,6°C. Nädala keskmisel õhutemperatuuril alla -5°C eoseid õhust ei leitud.



**Joonis 3.** Seitsme päeva keskmine eospüüdjäl saadud eoste hulk ja õhutemperatuuril kalendrikuude kaupa (18.10.2017-03.01.2020).

### 3.6. Õhuniiskuse mõju viljakehade ja eoste arvukusele

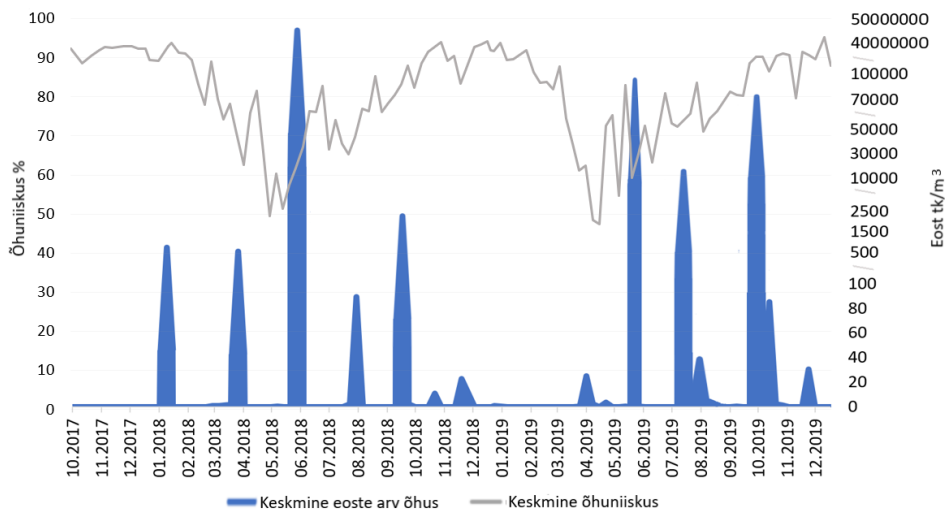
Õhuniiskuse mõju hindamisel on näha, et kõige rohkem eoseid viljakehades püsib keskmisel õhuniiskustasemel vahemikus 65-85% (Joonis 4). Keskmise õhuniiskuse langemisel alla 60% või ületades 90% on näha märgatavat viljakehades olevate eoste arvukuse kahanemist.



**Joonis 4.** Viljakehade ja eoste rohkus ja keskmine õhuniiskus kalendrikuude kaupa (18.10.2017-03.01.2020).



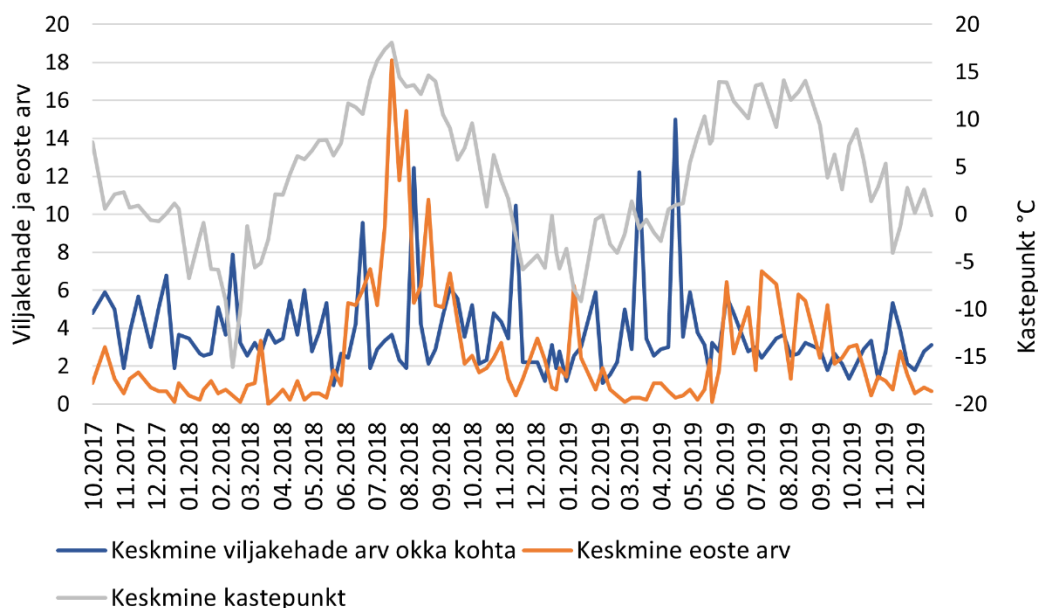
Kõige rohkem on eoseid õhus õhuniiskustasemel 60% ja seda nii 2018. ja 2019. aasta juunikuus (Joonis 5). Eoste arvukuse näitaja oli kõrge ka 2019. aasta oktoobris, kus keskmine õhuniiskusetase oli 85%. Alla keskmise õhuniiskustaseme 65% on eoste arv õhus oluliselt madalam.



**Joonis 5.** Seitsme päeva keskmine eospüüdjalt saadud eoste hulk ja keskmine õhuniiskus kalendrikuude kaupa (18.10.2017-03.01.2020).

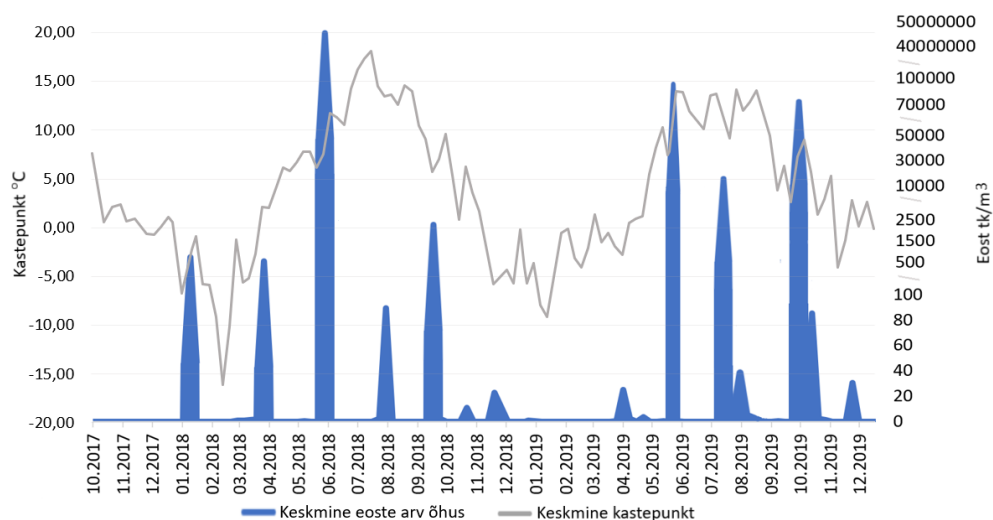
### 3.7. Kastepunkti mõju viljakehade ja eoste arvukusele

Statistiliselt oluliseks osutunud kastepunkti ja viljakehades olevate eoste arvukuse vahel (Tabel 1) on näha joonisel 6 tugevaid paralleele, kus keskmise kastepunkti temperatuuri langemise ja tõusu järgus on eoste arvukuses näha vastavaid muutusi. Juuni-, juuli-, augusti- ja septembrikuu kastepunkt on aastate lõikes kõrgeim (10-13,5°C). Augusti keskmine kastepunkt oli 13,4°C, kus eoste arvukus viljakehades oli kõrgeim. Kõige madalam eoste arv viljakehades oli mõlemal aastal maikuus, kus keskmine kastepunkt oli aastate lõikes 6°C.



**Joonis 6.** Viljakehade ja eoste rohkus ja keskmine kastepunkt kalendrikuude kaupa (18.10.2017-03.01.2020).

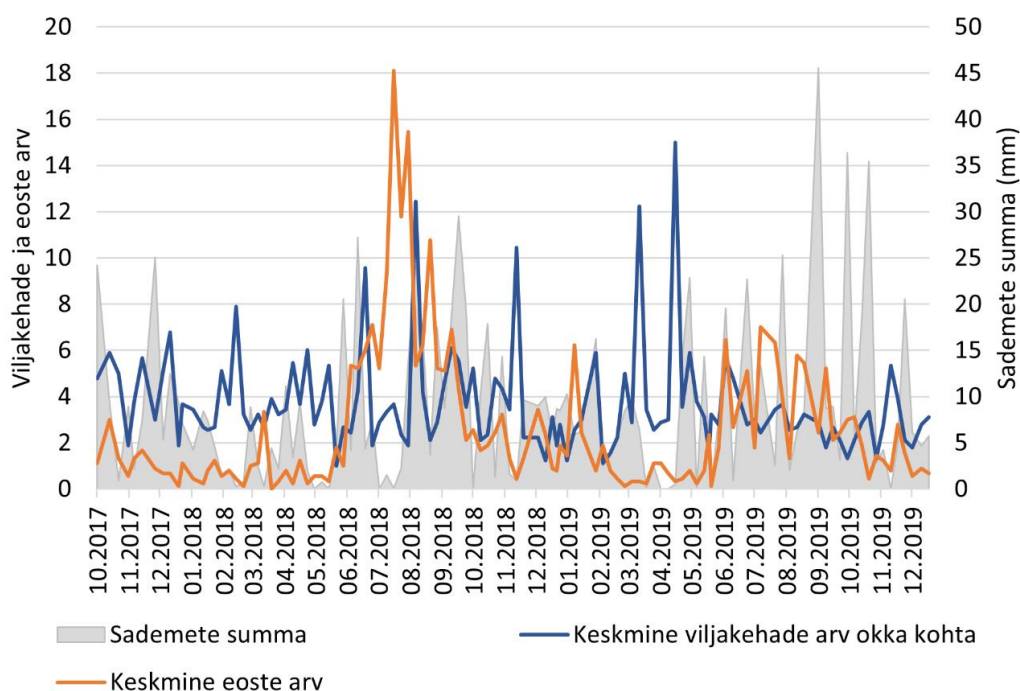
Kõige arvukamad eoste lendumised toimusid nädala keskmisel kastepunkti temperatuuri vahemikus 5-13,5°C (Joonis 7). Eoste arvukuse näitaja oli kõige kõrgem 14. juuni 2018. ja 6. juuni 2019. aastal, kus nädala keskmine kastepunkt oli 7,5-7,7°C. Nädala keskmisest kastepunktist alla -5,8°C eoseid õhust ei leitud.



**Joonis 7.** Seitsme päeva keskmine eospüüdjalt saadud eoste hulk ja keskmine kastepunkt kalendrikuude kaupa (18.10.2017-03.01.2020).

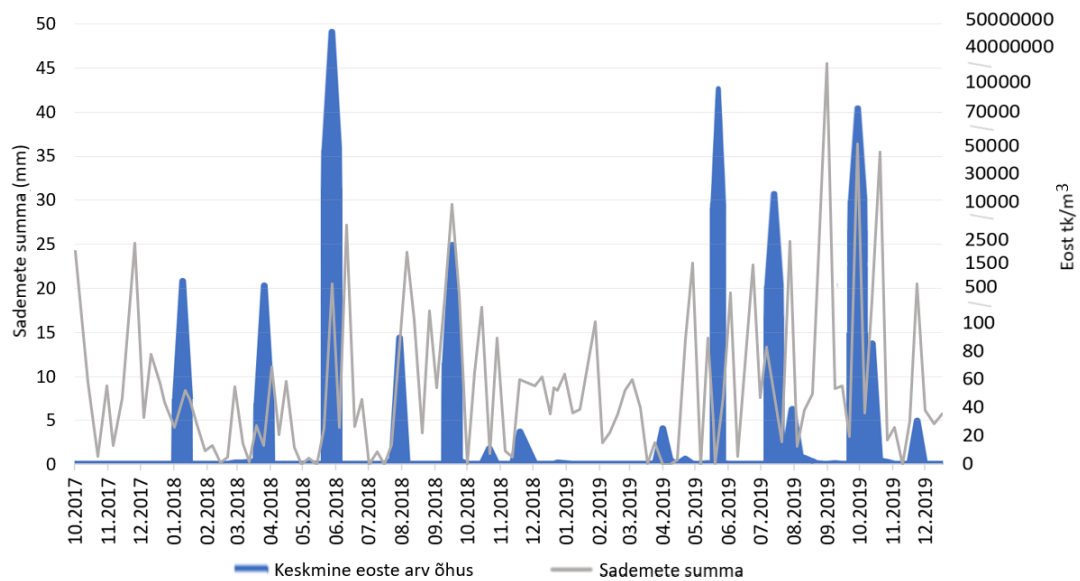
### 3.8. Sademete mõju viljakehade ja eoste arvukusele

2018. juuli ja augusti I pool, kus eoste arv viljakehades oli kõige kõrgem möödus väheste sademetega (Joonis 8). Augusti II poolel sademete hulk tõusis ning eoste arvukus viljakehades vähenes. Aasta hiljem oli juuli (43,6 mm), august (36,1mm) ja september (62,7mm) sademete rohkemad ning eoste arv viljakehades oli madalam.



**Joonis 8.** Viljakehade ja nendes olevate eoste rohkus ja sademete summa kalendrikuude kaupa (18.10.2017-03.01.2020).

Võrreldes sademete mõju eoste hulgale õhus on näha kokkulangevusi sademete rohkete nädalatega 2018. ja 2019. aasta oktoobris (Joonis 9). Kui nädala kõige kõrgem eoste arv saadi 14. juuni 2018 (45 495 923 eost), millele eelnenud nädala sademete summa oli 21,5 mm, siis kõige sademete rohkemal nädalal 18. september 2019, millele eelnenud seitsme päeva sademete summa oli 45,5 mm, eoseid õhust ei leitud. 2019. aasta oktoobrikuu sademete hulk oli 72,9 mm, mis oli kogu uuritava perioodi kõige sademete rohkem kuu ning samuti tuvastas qPCR analüüs eoseid õhus sel kuul mitmel päeval, kuid eoste hulk ei olnud nii suur, kui mõnel teisel vähesema sademetega kuul.



**Joonis 9.** Seitsme päeva keskmine eospüüdjäl saadud eoste hulk ja sademete summa kalendrikuude kaupa (18.10.2017-03.01.2020).

## 4. ARUTELU

Aastatega soojemaks muutuvad talved ning viimastel aastakümnetel esinenud suvised põuad võivad olla põhjuseks, miks soojemast kliimast pärit patogeene nagu punavöötaud (*Dothistroma septosporum*), valgevöötaud (*Cyclaneusma minus*), pruunvöötaud (*Lecanosticta acicola*) ja männivõrsevähk (*Diplodia sapinea*) on jõudnud Eestisse ja siinsetel aladel saanud levima hakata (Hanso, Drenkhan 2013). Pruunvöötaudi sõsarliik punavöötaud on Eestis tunduvalt kiiremini ja laialdasemalt levinud ning hüpe eksootmännilt kodumaisele toimus peale esmast leidu juba järgmisel aastal (Hanso, Drenkhan 2008). Mõlemal okkahaigusel on oht kujuneda krooniliseks männihaiguseks, kus okaste varisemine toimub iga aastaselt (Hanso, Drenkhan 2008). Kliimamuutuste mõjul soojenev ilmastik võib invasiivsete patogeene levikut soodustada. Samuti võivad ekstreemselt muutlikud ilmastikuolud muuta puuliigid vastuvõtlikumaks haiguste suhtes (Drenkhan, Hanso 2009).

Varasemad uurimused on täheldanud, et *L. acicola* eoste arenguks ja levikuks on olulised patogeenile sobilikud õhutemperatuur, niiskus ja sademed (Skilling, Nicholls 1974; Kais 1975; Wyka *et al.* 2018). Sellele tuginedes analüüsiti käesoleva töö käigus viljakehade ja nendes olevate eoste arvukusele lisaks ülal mainitud ilmastikuteguritele ka täpsemat niiskustaseme hindamisparameetrit - kastepunkti. Ilmaandmete mõju hindamisel selgus, et eoste arvukust mõjutab Eesti ilmastikufaktoritest kõige enam kastepunkt. Põhjus miks õhutemperatuur ja õhuniiskus osutusid statistiliselt mitteoluliseks võib olla tingitud sellest, et mudelisse arvestatud kogumiskuupäevale eelnenud seitsme päeva keskmine ilmastik ei pruugi ilmtingimata olla õige ajavahemik, iseloomustamaks viljakehade ja nendes olevate eoste arvukust, vaid mõju avaldav periood võib olla lühem või pikem. Sellegi poolest oli võimalik ilmastiku mõju viljakehadele ja eoste arvukusele hinnata visuaalsel vaatlusel (Joonised 2, 4, 6 ja 8).

Põhja-Ameerika kirdeosas on täheldatud, et kõige arvukamad eoste sporulatsioonid (eoste areng ja vabanemine viljakehadest) toimuvad 14-22. juunini, mil keskmine õhutemperatuur on üle 25°C, õhuniiskuse tase üle 70% ning sademete esinemine sage (Wyka *et al.* 2018).

Sarnaselt Põhja-Ameerikaga on ka antud töö tulemustes näha õhus levivate eoste arvukuse ekstreemset kasvu 2018. ja 2019. aasta juunikuus, kuid seda tunduvalt madalamal õhutemperatuuril ja õhuniiskustasemel ning sademete summa oli kõrge ainult 2018. aasta juunis. Varasemalt on täheldatud, et *Lecanosticta acicola* eoste aktiivne sporulatsioon toimub ka kevadel talvitunud viljakehadest, peale uute okaste kasvamist (Skilling, Nicholls 1974). Jaapanis on leitud, et just juunikuu noored männiokkad on *L. acicola* nakkusele vastuvõtlikumad kui vanemad septembrikuu okkad (Suto, Ougi 1998), viidates võimalikkusele, et eoste levikut võivad mõjutada ka muud tegurid, mida antud töös ei analüüsitud. Samuti on oluline märkida, et käesolevas töös kasutati eospüüdjat, mis on mõeldud püüdma õhus levivaid eoseid (Bukard). Samasugust eospüüdjat on varasemalt edukalt kasutatud saaresurma (*Hymenoscyphus fraxineus*) tuule abil levivate eoste kogumisel (Hietala *et al.* 2018). *Lecanosticta acicola* eosed levivad aga peamiselt veepritsmete abil, mistõttu antud seade ei pruugi eoste levikut kõige täpsemini kirjeldada.

Käesoleva töö tulemustest on näha, et viljakehad kasvatavad kõige rohkem eoseid kõige soojematel nädalatel (Joonis 2). kõrgeim eoste arv viljakehades saadi 02.08.2018 kogutud okkaproovist, millele eelneva nädala keskmine õhutemperatuur oli 24,7°C, õhuniiskus 68%, kastepunkt 18°C ning sademete hulk 0,05 mm. Aasta hiljem oli aga esimene augusti nädal pea poole võrra jahedam ning see väljendus ka eoste madalamas arvukuses. Kõrgeima eoste arvukusega nädal nihkus nädala võrra ettepoole, kus 24. juuli eelnenud nädala keskmine õhutemperatuur oli 19,3°C, õhuniiskus 72,5%, kastepunkt 13,7°C ning sademete hulk 13,4 mm. Kõige suurem eoste arvukus viljakehades on juulis, augustis ja septembris, peale mida eoste arv viljakehades hakkab oluliselt vähenema ning püsib madalal kuni järgise suveni. Antud töö tulemused sarnanevad Kattai (2012) magistrیتöö uurimustulemustega, kus leiti, et eoste arvukus viljakehades on kõrge just augusti keskpaigas, oktoobris ja novembris ning suurim eoste arv viljakehades saadi 15.08.2011. Oluline on märkida, et kuigi eoste areng ja vabanemine viljakehadest toimus aastaringselt, siis qPCR analüüsi tulemuste ja ilmaandmete võrdlusel täheldati, et eoste levikut ei toimunud keskmisel õhutemperatuuril alla -5°C. Saadud tulemused sarnanevad varasemate uurimustega, kus on leitud, et eoste levik toimub õhutemperatuuril -5,5°C - 28°C (van der Nest 2019a).

Kas uute patogeenide levik Eestis on ajutine või jäädav on sõltuv sellest, milliseks ilmastikuolud tulevikus kujunevad (Hanso, Drenkhan 2008). Eesti kliima aastani 2100 prognoosi kohaselt tõusev õhutemperatuur ning suurenevad sademete hulgad võivad luua *L.*

*acicola* intensiivseks levikuks sosivamad tingimused (Luhamaa *et al.* 2014), mistõttu on oluline jätkuvalt edasi seirata pruunvöötaudi leviku dünaamikat Eestis. Käesoleva töö tulemused on olulised patogeeni elutsükli tundma õppimiseks Põhja-Euroopa tingimustes ja sellele on praktiline ning teaduslik väärtus.

## 5. KOKKUVÕTE

Bakalaureusetöö käigus uuriti Eesti Maaülikooli dendraariumis pruunvöötaudi nakatunud mägimännil *L. acicola* viljakehade ja eoste rohkuse seost, seades alaeesmärkideks 1) uurida viljakehade ja eoste rohkuse seost ilmastikuandmetega, 2) uurida, kas viljakehade ja eoste rohkus on erinev kuude ja aastate lõikes ning 3) uurida viljakehade ja nendes olevate eoste rohkuse seost eoste hulgaga õhus. Selleks koguti perioodidel 18.10.2017-03.01.2020 okkaproovid ning 02.01.2018-03.01.2020 eospüüdja proovid. Käesoleva töö autor teostas labortööd eospüüdjal kogutud algandmete põhjal, mis koguti perioodil 03.01.2019-03.01.2020, et saada teada eoste arvukus õhus vastavalt kuupäevadele. Labortööd jagunesid kolme etappi, kus esmalt koguti eospüüdja lintidelt 660 proovi. Seejärel teostati DNA eraldamine ning viimasena qPCR analüüs. Järgnevalt koostati okkaproovide, eospüüdjalt saadud tulemustest ja ilmaandmetest andmetabel ning teostati statistiline analüüs.

Ilmastikumõju hindamisel selgus, et viljakehades olevate eoste arvukust iseloomustab Eesti ilmastikuoludes kõige paremini kastepunkt. Põhjus, miks õhuniiskus ja õhutemperatuur statistilist olulisust ei näidanud, võib olla tingitud asjaolul, et käesolevasse töösse arvestatud seitsme päeva keskmised ilmastikuandmed ei olnud õige vahemik. Kas mõju avaldav periood on lühem või pikem tuleb välja selgitada tulevastes uurimustes.

Ilmaandmete mõju hindamisel viljakehade ja eoste arvukusele visuaalsel vaatlusel täheldati, et viljakehades olevate eoste rohkust mõjutavad kõige enam soojad ja niisked ilmad. Mida kõrgem oli kastepunkti või õhutemperatuur, seda suurem oli eoste arv viljakehades. Kõige rohkem eoseid viljakehades oli nädalatel, mis antud töös langesid juuli lõppu ja augusti algusesse. Viljakehades olevate eoste arv oli kõige kõrgem 2. augustil 2018. aastal kogutud okkaproovis, millele eelnenud nädala keskmine õhutemperatuur oli 24,7°C, õhuniiskus 68,1% ning kastepunkt 18,1°C. Aasta hiljem saadi suurim eoste arv viljakehades 24. juulil kogutud okkaproovist, millele eelnenud nädala keskmine õhutemperatuur oli 19,3°C, õhuniiskus 72,5% ning kastepunkt 13,7°C. Viljakehade arvukus püsib ilmastikuoludest sõltumata ning eoste areng toimus ka miinuskraadidel.



Käesolevas töös leiti, et *L. acicola* viljakehades on eoseid kõige rohkem juulist septembri lõpuni. Viljakehad toodavad eoseid aastaringselt, kuid kõige madalam eoste arvukus viljakehades on märtsist mai lõpuni. Kogu uuritava perioodi kohta hajusid qPCR tulemused üksikult igasse kuusse. QPCR analüüsi tulemustest täheldati kõrget eoste hulka õhus juunis ning eoseid leidis õhus aastaringselt, kuid mitte alla keskmise õhutemperatuuri -5°C. Tulemuste kinnitamiseks, kas käesolevas töös kasutatud eospüüdja kirjeldas *Lecanosticta acicola* eoste hulka õhus objektiivselt, tuleks uurimused läbi viia ka teistsugusust eospüüdjat kasutades.

Käesolevas töös püstitatud hüpotees, et viljakehades olevate eoste rohkus sõltub õhutemperatuurist sai kinnitust. Õhutemperatuur ei näidanud mudelis statistilist olulisust eoste arvukuse suhtes. Sellegipoolest oli näha tugevaid seoseid visuaalsel vaatlusel, kus kõrgeim eoste arvukus viljakehades saadi nädalatel, mille keskmine õhutemperatuur oli kõige kõrgem. Teisena püstitatud hüpotees, et viljakehade ja eoste arvukus on kõige madalam talvel ei saanud kinnitust, kuna viljakehade arv ei erine kuude lõikes ning eoste arv viljakehades oli talvekuudest veelgi madalam kevadkuudel märtsist mai lõpuni. Kolmandaks püstitatud hüpotees, et õhus olevate eoste ja viljakehade arvukuse ning nendes olevate eoste hulga vahel ei ole seost sai kinnitust, kuna korrelatsioonanalüüs osutus statistiliselt mitteoluliseks.

Pruunvöötaudi levik Eestis võib oluliselt intensiivistuda, kui kliimamuutuste mõjul ilmastikutingimused seenhaiguste levikule soosivamaks osutuvad. Seetõttu on oluline jätkata uurimusi patogeeni levikust.

## KASUTATUD KIRJANDUS

- Adamson, K., Drenkhan, R., Hanso, M.** (2015). Invasive brown spot needle blight caused by *Lecanosticta acicola* in Estonia. Scandinavian Journal of Forest Research. 7 lk.
- Adamson, K., Laas, M., Drenkhan, R., Hanso, M.** (2018). Quarantine pathogen *Lecanosticta acicola*, observed at its jump from an exotic host to the native Scots pine in Estonia. Baltic Forestry 24(1). lk 36-41.
- Bukard eospüüdja** <http://burkard.co.uk/product/7-day-recording-volumetric-spore-trap/> (20.02.2021)
- Cleary, M., Laas, M., Oskay, F. and Drenkhan, R.** (2019) First report of *Lecanosticta acicola* on non-native *Pinus mugo* in southern Sweden. For. Path. 49. e12507
- Drenkhan, R., Hanso, M.** (2009). Recent invasion of foliage of pines (*Pinus* spp.) to the northern Baltics. Metsanduslikud uurimused. 51. lk 49-64.
- Drenkhan, R.** (2011). Epidemiological investigation of pine foliage diseases by the use of the needle trace method. Doktoritöö. Eesti Maaülikool, Metsandus- ja maaehitusinstituut, metsakasvatuse osakond, Tartu, 208 lk.
- Drenkhan, R., Adamson K.** (2013). Perekond männi (*Pinus*) okkahaiguste tekitajate lühimääraja. Tartu: Eesti Maaülikool, Metsandus- ja Maaehitusinstituut, Metsakasvatuse osakond, 26 lk. [http://ph.emu.ee/~drenkhan/okas/manni\\_okkahaiguste\\_lyhimaaraja.pdf](http://ph.emu.ee/~drenkhan/okas/manni_okkahaiguste_lyhimaaraja.pdf) (16.03.2021).
- Drenkhan, R., Adamson, K., Hanso, M.** (2013). Karantiinsete pruunvöötaudi ja teiste ohtlike vöötaudide seire, diagnostika ja tõrjestrategia. <https://dspace.emu.ee/xmlui/bitstream/handle/10492/6335/projekt2173.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (05.04.2021)
- Eesti Maaülikooli Tehnikainstituudi ilmajaam. <http://energia.emu.ee/weather/> (01.04.2021)
- Hanso, M., Drenkhan, R.** (2007). Punavöötaud on jõudnud Eestisse!. – Eesti Loodus, 7, 52 lk.
- Hanso, M., Drenkhan, R.** (2008). Puna-, pruun- ja valgevöötaud Eestis. – Eesti Mets 3, 16 – 22. [http://vana.loodusajakiri.ee/eesti\\_mets/artikkel832\\_813.html](http://vana.loodusajakiri.ee/eesti_mets/artikkel832_813.html) (04.03.2021)
- Hanso, M. and Drenkhan, R.** (2013) Simple visualization of climate change for improving the public perception in forest pathology. For. Studies. 58, 37–45.
- Hietala, A.M., Børja, I., Solheim, H., Nagy, N.E., Timmermann, V.** (2018). Propagule Pressure Build-Up by the Invasive *Hymenoscyphus fraxineus* Following Its Introduction to an Ash Forest Inhabited by the Native *Hymenoscyphus albidus*. Front. Plant Sci. 9:1087

- Hulme, P., Pyšek, P., Nentwig, W., Vilà, M.** (03.04.2009). Will threat of biological invasions unite the European Union? - Science Vol. 324. lk 40-41.
- Ioos, R., Fabre, B., Saurat, C., Fourrier, C., Frey, P., and Marçais, B.** (2010). Development, comparison, and validation of real-time and conventional PCR tools for the detection of the fungal pathogens causing brown spot and red band needle blights of pine. *Phytopathology* 100. lk 105-114.
- Janoušek, J., Wingfield, M.J., Monsivais, J.G.M., Jankovsky, L., Stauffer, C., Konečný, A., Barnes, I.** (2015). Genetic Analyses Suggest Seperate Introduction of The Pine pathogen *Lecanosticta acicola* Into Europe. *Phytopathology*. Vol. 106. 11, 2016 1417-1422
- Kais, A.G.** (1975) Environmental Factors Affecting Brown-Spot Infection on Longleaf Pine. *Phytopathology* 65. lk 1389-1392.
- Kattai, K.** (2012). Uus ja karantiine seenhaigus pruunvöötaud (*Mycosphaerella dearnessii*). Magistritöö. Eesti Maaülikool, metsandus- ja maaehitusinstituut, metsakasvatuse osakond. Tartu. 55 lk.
- Laas, M., Adamson, K., Drenkhan, R.** (2019). A look into the genetic diversity of *Lecanosticta acicola* in northern Europe. *Fungal Biology*. Vol 123. 10. lk 773-782.
- Luhamaa, A., Kallis, A., Mändla, K., Männik, A., Pedusaar, T., Rosin, K.** (2014). Eesti tuleviku kliimatsenaariumid aastani 2100. Keskkonnaagentuur. 90 lk.
- Markovskaja S., Kačergius A., Treigienė A.** (2011). Occurrence of new alien pathogenic fungus *Mycosphaerella dearnessii* in Lithuania. – Bot. Lith., 17(1): 29–37.
- Mullett, M. S., Adamson, K., Bragança, H., Bulgakov, T. S., Georgieva, M., Henriques, J., Jürisoo, L., Laas, M., Drenkhan, R.** (2018). New country and regional records of the pine needle blight pathogens *Lecanosticta acicola*, *Dothistroma septosporum* and *Dothistroma pini*. *Forest Pathology*. Lk 3-6
- OEPP/EPPO: *Lecanosticta acicola* (SCIRAC). EPPO Global Database.  
<https://gd.eppo.int/taxon/SCIRAC> (02.03.2021)
- OEPP/EPPO 2015. *Lecanosticta acicola* (formerly *Mycosphaerella dearnessii*), *Dothistroma septosporum* (formerly *Mycosphaerella pini*) and *Dothistroma pini*  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/epp.12217> (05.04.2021)
- Oskay, F., Laas, M., Mullet, M., Lehtjärvi, A., Doğmus-Lehtjärvi, H.T., Woodward, S., Drenkhan, R.** (2020). First report of *Lecanosticta acicola* on pine and non-pine hosts in Turkey. *Forest Pathology* 50, e12654. 8 lk.
- Pimentel, D., Lach, L., Zuniga, R., Morrison, D.** (2000). Environmental and Economic Costs of Nonindigenous Species in the United States. *BioScience* 50(1). lk 53-65.
- Skilling, D.D., Nicholls, T.H.** (1974) Brown spot needle disease – biology and control in Scotch pine plantations. US Department of Agriculture. Forest Service Research Paper 109. 19 lk.

- Suto, Y., Ougi, D.** (1998). *Lecanosticta acicola*, casual fungus of brown spot needle blight in *Pinus thunbergii*, new to Japan. Mycoscience 39. lk 319-325.
- Tartu Ülikooli Füüsika instituudi E-ilmajaam. <http://ilmajaam.physic.ut.ee/> (10.04.2021)
- van der Nest, A. Wingfield, J.M., Janušek, J., Barnes, I.** (2019a). *Lecanosticta acicola*: A growing threat to expanding global pine forests and plantations. Molecular Plant Pathology 20(10). lk 1327-1364.
- van der Nest, A., Wingfield, M.J., Ortiz, P.C. and Barnes, I.** (2019b) Biodiversity of *Lecanosticta* pine-needle blight pathogens suggests a Mesoamerican Centre of origin. IMA Fungus 10(2). 28 lk.
- Wyka, S.A., McIntire, C.D., Smith, C., Munck, I.A., Rock, B.N., Asbjornsen, H. and Broders, K.D.** (2018) Effect of climatic variables on abundance and dispersal of *Lecanosticta acicola* spores and their impact on defoliation on eastern white pine. Phytopathology, 108. lk 374–383.

# **Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta**

Mina, Helene Eenlo,

(sünnipäev 04/12/1993)

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud lõputöö

Pruunvöötaudi tekitaja *Lecanosticta acicola* viljakehade ja eoste rohkus Eestis,

mille juhendaja on Kalev Adamson *PhD*, Marili Laas *MSc*

1.1.salvestamiseks säilitamise eesmärgil,

1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja

1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor \_\_\_\_\_

Allkiri

Tartu, 27.05.2021

**Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta**

Luban lõputöö kaitsmisele.

---

*(juhendaja nimi ja allkiri)      (kuupäev)*

---

*(juhendaja nimi ja allkiri)      (kuupäev)*